Goetsch, W. 1922. *Hermaphroditismus und Gonochorismus bei Hydrozoen.* Zool. Anz. 54: 6-18.

Kuwabara, M. 1936. *Beiträge zur Kenntnis der Sexualität von Süsswasserhydroiden. I. Die sexuellen Rassen von Hydra attenuata.* Jour. Fac. Sci. Hokkaido Imp. Univ. Ser. VI, 5:95-111.

Strelin, G. S. 1928. *Röntgenologische Untersuchungen an Hydren.* Roux' Arch. 115: 27-51.

Tardent, P. 1954. *Axiale Verteilungs-Gradienten der interstitiellen Zellen bei Hydra und Tubularia und ihre Bedeutung für die Regeneration.* Roux' Arch. 146: 593-649.

— 1966. *Zur Sexualbiologie von Hydra attenuata Pall.* Rev. suisse Zool. 73: 357-381.

— und U. Morgenthaler. 1966. *Autoradiographische Untersuchungen der Zellwanderung bei Hydra attenuata Pall.* Rev. suisse Zool. 73: 468-480.

Wiese, L. 1953. *Geschlechtsverhältnisse und Geschlechtsbestimmung bei Süsswasserhydroiden.* Zool. Jahrb. Abt. Zool. 64: 55-83.

Zawarzin, A. A. 1928. *Röntgenologische Untersuchungen an Hydren.* Roux' Arch. 115: 1-26.

N° 30. **J. Gallera,** Genève. — Mise en évidence du rôle de l'ectoblaste dans la différenciation des somites chez les Oiseaux [1]. (Avec 5 figures dans le texte)

Laboratoire d'Embryologie expérimentale, Institut d'Anatomie, Université de Genève.

Introduction

Plusieurs auteurs ont tenté d'analyser expérimentalement le problème de la segmentation du matériel somitique chez les Oiseaux (Grünwald 1936, Spratt 1955 et Bellairs 1963, pour ne citer que les recherches les plus importantes). En ce qui concerne la différenciation tardive des différents dérivés des somites, nous sommes particulièrement bien renseignés sur les facteurs responsables de la

[1] Travail subventionné par le Fonds national suisse de la Recherche scientifique.

différenciation du matériel sclérotomial (WATTERSON et FOWLER 1954, STRUDEL 1955-1963). En revanche les premiers stades de la différenciation des somites, à savoir la formation du dermatome et du sclérotome, n'ont pas été soumis à une analyse expérimentale approfondie.

Dans nos expériences plus anciennes (1964), nous avons transplanté divers fragments de la ligne primitive sur la face ventrale de l'aire opaque ou, plus rarement, sur la région antéro-latérale de l'aire pellucide pour étudier leur pouvoir inducteur. Les greffons ont été appliqués la face ventrale contre l'ectoblaste de l'hôte. A l'exception des somites, toutes les autres structures fournies par nos greffons se sont orientées conformément à l'axe dorso-ventral du matériel greffé. En revanche, les plaques dermiques des somites ont été toujours tournées vers l'ectoblaste de l'hôte. Cette observation semble indiquer que le feuillet externe déclenche la formation du dermatome dans le matériel somitique.

Afin de vérifier cette hypothèse nous avons réexaminé attentivement notre matériel ancien et entrepris des expériences nouvelles, consistant à greffer des plaques somitiques, leur face ventrale contre l'ectoblaste, et à intercaler une rangée de quelques somites soit entre deux couches d'ectoblaste soit entre deux couches d'endoblaste.

MATÉRIEL ET TECHNIQUE.

Les expériences sont faites sur des blastodermes de White Leghorn cultivés *in vitro*. Le blastoderme est excisé du jaune d'œuf avec une rondelle de la membrane vitelline, laquelle est tendue sur un anneau de verre emboîté dans un autre. L'ensemble est posé sur un verre de montre contenant de l'albumen. Le blastoderme est orienté soit vers le haut soit vers le bas et dans ce dernier cas l'opération est pratiquée du côté dorsal par une fenêtre faite dans la membrane vitelline [1]. Les interventions micro-chirurgicales sont exécutées à l'aide de fines aiguilles et d'anses d'irido-platine. Les blastodermes opérés sont incubés dans l'atmosphère saturée de vapeur d'eau 30 heures au maximum et fixés au Bouin. Les coupes sériées sont colorées à l'hématoxyline-érythrosine.

---

[1] Le lecteur trouvera une description détaillée des techniques de culture *in vitro* employées dans notre laboratoire dans deux notes publiées en collaboration avec G. NICOLET dans le journal *Experientia* en 1961 et 1963.

Résultats Expérimentaux.

1. *Excision et transplantation de différentes régions de la moitié antérieure de la ligne primitive achevée.* Deux cents greffons environ ont été examinés sur des coupes sériées. Dans tous les cas, ces greffons ont été implantés leur face ventrale tournée vers l'ectoblaste du blastoderme-hôte. Ils ont été excisés à travers tous les feuillets du blastoderme, par conséquent leur face ventrale était primitivement revêtue de l'endoblaste, cependant, comme nous l'avons constaté, les cellules endoblastiques ne restent jamais en profondeur, mais, peu de temps après l'implantation du greffon, elles se déplacent en surface pour s'incorporer au feuillet interne. Par conséquent, le matériel mésoblastique fourni par nos greffons est toujours en contact direct avec l'ectoblaste du blastoderme-hôte.

Les prestations de nos greffons dépendent de la région de la ligne primitive sur laquelle ils ont été prélevés et, dans une certaine mesure, de leurs dimensions. La moitié environ de nos greffons ont formé des somites, mais comme plusieurs de nos blastodermes ont été fixés avant la différenciation des somites en dermatome et sclérotome, ce n'est que dans une quarantaine de cas que les plaques dermiques et les éléments sclérotomiaux se sont bien constitués. Dans tous ces cas, les plaques dermiques sont orientées vers l'ectoblaste du blastoderme-hôte. La figure 1 illustre l'un de



Fig. 1.

Coupe transversale des ébauches fournies par un fragment antérieur de la ligne primitive implanté, face ventrale contre l'ectoblaste, sur l'aire opaque d'un autre blastoderme. Les plaques dermiques des somites sont orientées vers l'ectoblaste du blastoderme-hôte.

ces cas. Le greffon, long de 0,6 mm et contenant le nœud de Hensen, a été transplanté sur l'aire vitelline d'un blastoderme au stade du prolongement céphalique. A cet âge, l'ectoblaste a déjà perdu ses compétences neurogènes, de sorte que le greffon n'a pu déclencher



Fig. 2.

Les plaques somitiques ont été transplantées dans une niche pratiquée dans le rempart vitellin et appliquées la face ventrale contre l'ectoblaste. Nous voyons que le matériel sclérotomial présomptif a donné naissance aux plaques dermiques.

aucune induction neurale. Par contre, il a fourni, lui-même, une petite plaque neurale dont les bords se sont soudés à l'endoblaste vitellin du blastoderme-hôte. Ce greffon a encore formé une chorde et de nombreuses paires de somites. Ces derniers se sont différenciés contrairement à la polarité dorso-ventrale des autres structures fournies par le greffon. En effet, comme nous le voyons sur cette figure, la face ventrale des dermatomes est orientée vers la face ventrale de la plaque neurale formée par notre greffon, tandis que la face dorsale des plaques dermiques est tournée vers l'ectoblaste du blastoderme-hôte.

2. *Transplantation sur l'aire opaque du matériel somitique déjà mis en place.* Les deux plaques somitiques, prélevées sur des embryons pourvus de quelques paires de somites au plus, sont implantées côte à côte dans une niche pratiquée dans le rempart vitellin et appliquées la face ventrale contre l'ectoblaste. Seulement une partie de notre matériel a été étudié histologiquement. Pourtant, dans tous les cas examinés, où la différenciation était suffisante pour permettre un diagnostic sûr, nous avons constaté que la plaque

dermique était orientée vers l'ectoblaste, c'est à dire inversement à la polarité dorso-ventrale primitive de nos greffons. L'un de ces huit cas est représenté sur la figure 2. Les plaques somitiques ont été prélevées sur un embryon pourvu déjà de quatre paires de somites et elles ont été transplantées sur un blastoderme plus jeune. Son feuillet externe a réagi à la présence de nos greffons en prenant l'aspect de l'épithélium embryonnaire troncal. Les plaques dermiques, très bien différenciées, sont tournées vers cet ectoblaste, tandis que les cellules mésenchymateuses du sclérotome sont situées au-dessous et reposent en bas sur les parois de vaisseaux formés dans l'aire vasculaire du blastoderme-hôte.

3. *Une rangée de quelques somites troncaux est intercalée in situ entre deux couches d'ectoblaste.* Les embryons pourvus d'une à douze paires de somites, sont opérés du côté ventral. D'un côté de l'embryon, l'endoblaste est enlevé du matériel somitique et du bord interne de la lame latérale. Sur un autre embryon, nous excisons une longue bande d'ectoblaste dénudé au niveau de la région didermique et plus en avant. Cette bande est posée sur les somites et la plaque somitique décortiqués de l'endoblaste. Très vite, l'ectoblaste greffé se soude au feuillet interne. Cependant, l'ectoblaste greffé ne peut adhérer à la paroi ventrale des somites



Fig. 3.

Coupe transversale d'un embryon où quelques somites troncaux ont été revêtus du côté ventral par l'ectoblaste prélevé sur la région antérieure d'un autre blastoderme. A droite de la figure, le somite, contenu entre les deux couches d'ectoblaste, a formé deux plaques dermiques.

qu'en arrière de l'intestin céphalique. Sur les coupes sériées de nos embryons, nous l'avons retrouvé sur la longueur de cinq à huit somites troncaux, en comptant à partir du niveau des veines omphalo-mésentériques. Dans tous les cas (10), où l'ectoblaste greffé était en contact avec la paroi ventrale des somites, celle-ci s'est différenciée en plaque dermique. Il va de soi que ces somites ont aussi donné naissance aux dermatomes situés normalement, sous l'épiblaste troncal de l'embryon.



Fig. 4.

Coupe transversale pratiquée à la hauteur d'une paire de somites troncaux. Le somite gauche est normal, tandis que le droit, contenu entre deux couches d'ectoblaste, est fortement dilaté et pourvu de deux plaques dermiques. Son sclérotome, très réduit quantitativement, s'est constitué à partir de l'angle médio-ventral du somite en question.

Chez l'embryon, dont la coupe transversale est reproduite sur la figure 3, l'ectoblaste greffé s'est fortement contracté et épaissi. Il s'étend le long de cinq somites troncaux et sous la chorde. Ces somites, situés entre deux couches d'ectoblaste, sont pourvus de deux plaques dermiques. En effet, comme nous le voyons sur notre figure (à droite), le dermatome correspondant à l'ectoblaste greffé s'est différencié aux dépens du matériel somitique qui devrait normalement fournir le sclérotome. Rien d'étonnant alors que ce dernier ne soit représenté que par quelques cellules qui se détachent de la paroi du somite tournée vers le tube neural.

La figure 4 reproduit, sous un grossissement plus petit, une coupe transversale d'un autre embryon. Dans ce cas, l'ectoblaste

greffé ventralement est très mince et légèrement ondulé. La distance entre cet ectoblaste et l'épiblaste de l'embryon est nettement plus grande que dans le cas précédent. La cavité du somite (à droite sur la figure) est anormalement dilatée et sa paroi amincie. Grâce à cette dilatation, les parois du somite restent en contact avec les deux couches d'ectoblaste et il a pu former deux plaques dermiques. On serait tenté de dire que le matériel somitique est « attiré » par le feuillet externe, auquel, d'ailleurs, les deux dermatomes sont reliés par de très fins filaments plasmatiques. Le sclérotome, très réduit quantitativement par rapport à celui développé du côté opposé de l'embryon, provient exclusivement de l'angle médio-ventral de notre somite à deux plaques dermiques.

Chez les quatre derniers embryons de cette série expérimentale, l'une des aortes primitives, très dilatée et éventuellement divisée en quelques branches parallèles, sépare l'ectoblaste greffé des somites sus-jacents. Ces somites n'ont formé qu'une seule plaque dermique. Elle est située normalement, sous l'épiblaste de l'embryon. Ce résultat montre que l'ectoblaste greffé n'exerce une action efficace sur la différenciation de la paroi ventrale du somite qu'à une petite distance.

4. *Une rangée de quelques somites troncaux est intercalée in situ entre deux couches d'endoblaste.* Ces expériences, peu nombreuses (9 cas), nous serviront de contrôle.

Des embryons pourvus de quatre à neuf paires de somites sont opérés du côté dorsal. L'intervention micro-chirurgicale est pratiquée sur la région troncale antérieure. Surtout chez les embryons jeunes, la gouttière neurale est encore largement ouverte et ses bords recouvrent partiellement les somites. D'un côté de l'embryon, le bord de la plaque neurale et l'ectoblaste situé plus latéralement sont séparés soigneusement du mésoblaste et excisés sur une longueur correspondant à une rangée de quelques somites. Les donneurs de l'endoblaste sont au stade de la ligne primitive. Une bande de l'endoblaste est prélevée sur la région antérieure de l'aire pellucide où se trouve le croissant antérieur de Duval. L'endoblaste excisé est transplanté sur la face dorsale de l'embryon-hôte et implanté sur sa région dénudée du feuillet externe. L'endoblaste greffé se soude facilement au bord de l'incision faite à travers la moitié gauche de la plaque neurale et à l'ectoblaste extra-

embryonnaire, de sorte que quelques somites (jusqu'à 6) sont intercalés entre deux couches d'endoblaste.



FIG. 5.

Coupe transversale d'un embryon dont l'épiblaste troncal a été remplacé sur une certaine étendue par une bande de l'endoblaste vitellin. A ce niveau, la plaque neurale est largement étalée, cependant le somite droit, revêtu d'épiblaste, est normalement différencié en dermatome, sclérotome et myotome. Du côté opposé et dépourvu d'épiblaste, les somites se sont dispersés en une épaisse couche de cellules mésenchymateuses.

Le développement général des embryons opérés n'est que légèrement altéré. A l'endroit opéré, la gouttière neurale n'arrive pas, dans la majorité des cas, à se fermer et les somites se dispersent en cellules mésenchymateuses qui remplissent plus ou moins uniformément l'espace contenu entre l'ébauche neurale, la chorde et l'aorte. Nous avons représenté ces relations sur notre figure 5. Du côté droit de l'embryon, nous voyons un somite normal, différencié déjà en dermatome, sclérotome et myotome. Au contraire, sous la moitié gauche de la plaque neurale et plus latéralement, sous l'endoblaste greffé qui a gardé son caractère vitellin, nous n'avons affaire qu'à un magma de cellules mésenchymateuses plus condensées que celles du sclérotome normal.

Rapportons encore que la dispersion des somites en mésenchyme n'est pas toujours complète au niveau du bord antérieur et postérieur de l'endoblaste greffé. Les somites situés dans ces régions limitrophes ne forment jamais de plaques dermiques, mais peuvent persister sous forme de petits amas de cellules volumineuses et

claires qui se seraient peut-être différenciées en éléments musculaires.

Discussion.

Les greffes des fragments antérieurs de la ligne primitive et de plaques somitiques déjà formées sous l'ectoblaste périphérique d'autres blastodermes nous ont fait présumer que la différenciation du dermatome dépend de l'ectoblaste. En effet, nos greffons, bien que leur face ventrale ait été appliquée contre l'ectoblaste, ont fourni des somites dont les plaques dermiques ont été toujours orientées vers le feuillet externe du blastoderme hôte.

Nos expériences de contrôle, où une rangée de quelques somites troncaux a été intercalée entre deux couches d'endoblaste, ont montré qu'en l'absence de l'ectoblaste le dermatome ne peut pas se former. Les somites contenus entre deux couches d'endoblaste se dispersent en mésenchyme et, éventuellement, donnent naissance à quelques petits amas de cellules condensées et d'aspect plus ou moins myotomial.

En revanche, les somites intercalés entre deux couches d'ectoblaste donnent deux plaques dermiques, l'une correspondant au dermatome normal et une autre formée aux dépens de cellules sclérotomiales présomptives.

La confrontation de nos résultats apporte la preuve irréfutable que le contact de l'ectoblaste et du matériel somitique est non seulement indispensable à la formation du dermatome, mais que l'ectoblaste est capable d'induire la formation d'une plaque dermique même dans le matériel sclérotomial présomptif.

Insistons encore sur le fait que cette influence sur la différenciation du matériel somitique est exercée aussi bien par l'épiblaste embryonnaire que par celui de l'aire vasculaire ou même vitelline. Mentionnons enfin, en anticipant sur les premiers résultats de nos expériences actuellement entreprises, que le neurectoblaste semble être totalement dépourvu de toute action inductrice dermatogène sur le matériel somitique.

Résumé.

Différents types d'interventions microchirurgicales sont exécutés sur de jeunes blastodermes de poulet cultivés *in vitro*.

Des fragments de la ligne primitive ou de plaques somitiques déjà formées sont transplantés sur des blastodermes-hôtes dans l'aire opaque et quelquefois dans l'aire pellucide. Quoique ce soit toujours la face ventrale de ces greffons qui soit appliquée contre l'ectoblaste, les plaques dermiques des somites, qu'ils ont formés, sont sans exception tournées vers le feuillet externe de l'hôte.

Une rangée de quelques somites troncaux est intercalée *in situ* entre deux couches d'ectoblaste. De ces somites dérivent deux dermatomes, l'un situé normalement, l'autre différencié aux dépens du matériel sclérotomial présomptif.

Si nous excisons, d'un côté du corps embryonnaire, l'épiblaste recouvrant les somites troncaux pour le remplacer par une bande d'endoblaste, les somites disposés entre les deux couches endoblastiques ne forment jamais de plaques dermiques, mais se dispersent en mésenchyme.

Tous ces résultats démontrent que l'ectoblaste, aussi bien embryonnaire que périphérique, induit dans le matériel somitique jeune la formation du dermatome.

Summary.

Various kinds of microsurgical experiments are performed on young *in vitro* cultured chick blastoderms.

Grafts of the primitive streak or of segmental plates already formed are transplanted on host blastoderms in the area opaca and sometimes in the area pellucida. Although the ventral side of these grafts is always put against the ectoblast, the cutis plates of the somites formed by them are in all cases turned towards the outer layer of the host.

A row of a few trunkal somites is intercalated *in situ* between two ectoblastic layers. From these somites derive two dermatomes, one orthotopically, the other coming from the presumptive sclerotomic material.

If we excised, on one side of the embryonic body, the epiblast covering the trunkal somites, in the place of which we graft a piece of endoblast, the somites lying between the two endoblastic layers never form cutis plates, but are scattered into mesenchymal cells.

All these results demonstrate that the embryonic as well as the extra-embryonic ectoblast induces in the early somitic material the formation of the dermatome.

Zusammenfassung.

Verschiedene Arten von micro-operativen Eingriffen werden an jungen *in vitro* kultivierten Hühnchenkeimscheiben ausgeführt.

Fragmente von dem Primitivstreifen oder von den schon gebildeten Ursegmentplatten werden auf Empfangerkeimscheiben in dem Area opaca und manchmal in dem Area pellucida überpflanzt. Obwohl die ventrale Seite von diesen Transplanten auf den Ektoblast liegt, werden die Hautsegmente der von diesen gebildeten Somiten, ausnahmslos nach dem ausseren Keimblatt des Empfangers orientiert.

Eine Reihe von einigen Rumpfursegmenten wird zwischen zwei ektoblastischen Schichten *in situ* eingeschoben. Aus diesen Ursegmenten werden zwei Dermatome gebildet: eines normal orientiert, das andere von dem presumptiven sclerotomischen Material differenziert.

Wir schneiden den die Rumpfursegmente deckende Epiblast auf einer Seite des Embryones aus, sodass wir diesen durch einen endoblastischen Teil vertauschen konnen. Die zwischen den zwei endoblastischen Schichten gelegenen Ursegmente bilden nie Hautsegmente, aber sie zerstreuen sich in mesenchymale Zellen.

Alle diese Ergebnisse beweisen, dass der Embryonenektoblast, und in gleicher Weise der extra-embryonale Ektoblast die Bildung des Dermatoms in dem frühen Ursegmentmaterial induzieren.

BIBLIOGRAPHIE

Bellairs, R. 1963. *The development of somites in the chick embryo.* J. Embryol. exp. Morph. 11: 697-714.

Gallera, J. 1964. *Excision et transplantation des différentes régions de la ligne primitive chez le poulet.* Bull. de l'Assoc. des Anat. 49: 632-639.

— et G. Nicolet. 1961. *Quelques commentaires sur les méthodes de culture « in vitro » de jeunes blastodermes de Poulet.* Experientia 17: 134.

— et I. Ivanov. 1964. *La compétence neurogène du feuillet externe du blastoderme de poulet en fonction du facteur «temps».* J. Embryol. exp. Morph. 12: 693-711.

Grünwald, P. 1936. *Experimentelle Untersuchungen über die Beziehungen der Medularanlage zur Entwicklung der Urwirbel beim Huhn.* Arch. Entw. Mech. Org. 135: 389-407.

Nicolet, G. et J. Gallera. 1963. *Dans quelles conditions l'amnios de l'embryon de poulet peut-il se former en culture in vitro?* Experientia 19: 165.

Spratt, N. T. 1955. *Analysis of the organizer center in the early chick embryo.* I. *Localization of prospective notochord and somite cells.* J. exp. Zool. 128: 121-164.

Strudel, G. 1955. *L'action morphogène du tube nerveux et de la chorde sur la différenciation des vertèbres et des muscles vertébraux chez l'embryon de poulet.* Arch. d'Anat. micr. et de Morph. exp. 44: 209-235.

— 1962. *Induction de cartilage in vitro par l'extrait de tube nerveux et de chorde de l'embryon de poulet.* Developmental Biol. 4: 67-86.

— 1963. *Autodifférenciation et induction de cartilage à partir de mésenchyme somitique de poulet cultivé in vitro.* J. Embryol. exp. Morph. 11: 399-412.

Watterson, R. L., I. Fowler and B. J. Fowler. 1954. *The role of the neural tube and notochord in development of the axial skeleton in chicks.* Amer. J. Anat. 95: 337-400.

No 31. **R. Hauser und F. E. Lehmann,** Bern. — Abhängigkeit der normogenetischen Regeneration der Schwanzspitze bei *Xenopus laevis* Daud. von einem neurogenen Faktor im Liquor cerebrospinalis. (Mit 4 Textabbildungen)

Abteilung für Entwicklungs- und Tumorbiologie des Zoologischen Instituts der Universität Bern.

1. Autonome Regenerationsleistungen isolierter Schwanzstücke

Am Anfang unserer Untersuchungen stand die Frage nach dem autonomen Regenerationsvermögen des isolierten Xenopusschwanzes. Stücke aus der distalen Schwanzhälfte bleiben in Holtfreterlösung mindestens einen Monat am Leben und zeigen